



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **09227388 A**(43) Date of publication of application: **02.09.97**

(51) Int. Cl.

A61K 31/765(21) Application number: **08063633**(22) Date of filing: **15.02.96**(71) Applicant: **NAGANUSHI
TETSUAKINAGANUSHI
YOUICHIROU**(72) Inventor: **NAGANUSHI YOUICHIROU
SATO KIYOTAKA**(54) **ANTI-MALIGNANT TUMOR AGENT USING FOR
CANCER SELECTED FROM COLON,
ESOPHAGUS AND MAMMARY CANCERS**

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide an anti-malignant tumor agent having a reduced side effect and an excellent effectivity.

SOLUTION: This anti-malignant tumor agent is obtained by condensing L-lactic acid by means of dehydration under stepwise reduced pressures at elevated temperature in a nitrogen atmosphere and drying a

component soluble in ethanol and methanol separated from the resulted reaction solution under a reduced pressure followed by reversed phase ODS column chromatography. After elution with an aqueous 25-50% solution of acetonitrile of pH2, the fraction obtained by elution with 100% acetonitrile of pH2 contains a mixture of L-lactic acid oligomers bearing cyclic and straight chains as a main component which possesses a condensation degree of 9-19 and is useful as an anti-malignant tumor agent for a cancer selected from colon, esophagus and mammary cancers.

COPYRIGHT: (C)1997,JPO

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-227388

(43) 公開日 平成9年(1997)9月2日

(51) Int. Cl.⁸

A 6 1 K 31/765

識別記号

ADU

庁内整理番号

F I

A 6 1 K 31/765

技術表示箇所

ADU

審査請求 未請求 請求項の数1 書面 (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願平8-63633

(22) 出願日 平成8年(1996)2月15日

(71) 出願人 596038397

長主 哲明

福岡県田川郡川崎町田原1121番地

(71) 出願人 596038401

長主 陽一朗

福岡県田川郡川崎町田原1121番地

(72) 発明者 長主 陽一朗

福岡県田川郡川崎町田原1121番地

(72) 発明者 佐藤 喜代隆

佐賀県三養基郡基山町小倉894番92

(54) 【発明の名称】 大腸癌、食道癌及び乳癌より選ばれた癌に用いる抗悪性腫瘍剤

(57) 【要約】

【課題】 副作用が少なく有効性の優れた抗悪性腫瘍剤の提供。

【解決手段】 L-乳酸を窒素ガス雰囲気中で段階的減圧及び昇温によって脱水縮合し、得られた反応液のエタノール及びメタノール可溶成分を減圧乾燥した後、逆相ODSカラムクロマトグラフィーを行い、pH2.0の25～50%アセトニトリル水溶液で溶離後、pH2.0の100%アセトニトリルで溶離した画分である縮合度9～19の環状及び直鎖状の混合L-乳酸オリゴマーを主成分とし、大腸癌、食道癌及び乳癌より選ばれた癌に用いる抗悪性腫瘍剤からなる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 L-乳酸を窒素ガス雰囲気中で段階的減圧及び昇温によって脱水縮合し、得られた反応液のエタノール及びメタノール可溶成分を減圧乾燥した後、逆相ODSカラムクロマトグラフィーを行い、pH2.0の25～50%アセトニトリル水溶液で溶離後、pH2.0の100%アセトニトリルで溶離した画分である縮合度9～19の環状及び直鎖状の混合L-乳酸オリゴマーを主成分とし、大腸癌、食道癌及び乳癌より選ばれた癌に用いる抗悪性腫瘍剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、人を含む動物の大腸癌、食道癌及び乳癌より選ばれた癌に用いる抗悪性腫瘍剤に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 従来、外科手術、化学療法及び放射線療法が悪性腫瘍の三大療法となっているが、未だ十分な成果が上がっていないのが現状である。殊に、長期間服用される化学療法剤にあっては総じて副作用が極めて強いのみならず、抗腫瘍効果が不定で、大腸癌、食道癌等の固型癌に有効な薬物はほとんど存在しない。

【0003】 このため、抗腫瘍効果を高めることを期待して様々な多剤併用療法が試みられているが、副作用の重複や増強、新たな障害や薬害等をもたらし、著しい生活の質（QOL）の低下、治療による体力の消耗や寿命の短縮等も少なからず発生している。

【0004】 悪性腫瘍に対する新しい療法として種々の免疫療法が提案されているが、研究段階であり、副作用の少ない有効な免疫療法剤の早期実現が待たれている。

【0005】 投与経路についても血管や腫瘍局所等への注射が主体であり、有用性の高い経口用の抗悪性腫瘍剤は皆無に等しいのが現状である。又、L-乳酸を常圧又は減圧下で窒素ガス等の不活性ガスの雰囲気中で加熱し、得られた反応液をメタノール又はエタノールに熱時溶解後、濾過し、濾液を減圧乾燥後アセトニトリルに溶かすか又は、直接アセトニトリルに溶かした溶液を予めpH2～3の25%アセトニトリル水溶液で平衡化しておいた逆相系ODS又はDSカラムでクロマトグラフィーを行い、pH2～3の30～50%アセトニトリル水溶液で溶離後、pH2～3の70%以上のアセトニトリル濃度の水溶液で溶離した画分であって縮合度が5～23のL-乳酸直鎖状縮合物と縮合度が2～15のL-乳酸環状縮合物との混合物よりなる人を含む動物の悪性腫瘍細胞増殖抑制剤が特開平5-310581号として提案されている。このものは人子宮頸部癌株細胞、人鼻咽頭癌株細胞、人口腔底癌株細胞、マウス肺癌細胞、ウサギ肝癌由来株細胞、吉田肉腫、人の胃癌、甲状腺癌、肺癌及び子宮癌に対するものであった。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】 本発明者は、L-乳酸オリゴマーの縮合度の違いによる抗腫瘍効果の差を検討した結果、縮合度9～19のL-乳酸オリゴマーが大腸癌、食道癌及び乳癌に対して特異的に強い抗腫瘍効果を示し、悪性腫瘍に随伴する疼痛等の緩和を含む顕著な体調改善作用を有することを発見した。

【0007】 本発明は、このように新たに特徴的な効果の見出された縮合度9～19のL-乳酸オリゴマーを、人を含む動物の抗悪性腫瘍剤として提供することを目的とするものである。

【0008】 これは、悪性腫瘍の治療や発生予防等の場面で状況に応じて選択できる非経口及び経口経路による適用、ならびに最大効果を上げるための既存の抗腫瘍療法との併用療法が含まれ、従来の治療方法の拡大と治療率の向上に資するものである。

【0009】

【課題を解決するための手段】 上記の目的を達成するため、本発明の抗悪性腫瘍剤は、L-乳酸を窒素ガス雰囲気中で段階的減圧及び昇温によって脱水縮合し、得られた反応液のエタノール及びメタノール可溶成分を減圧乾燥した後、逆相ODSカラムクロマトグラフィーを行い、pH2.0の25～50%アセトニトリル水溶液で溶離後、pH2.0の100%アセトニトリルで溶離した画分である縮合度9～19の環状及び直鎖状の混合L-乳酸オリゴマーを主成分とし、大腸癌、食道癌及び乳癌より選ばれた癌に用いる抗悪性腫瘍剤を利用するものである。

【0010】 L-乳酸オリゴマーは環状及び直鎖状の縮合体で構成されるが、両者の間には一種の可逆平衡関係が成立していること、L-乳酸オリゴマーの生物活性の多様性や縮合度の異なる各画分の複合によって抗腫瘍効果が発現していること等の事実にも照らしてみても、環状及び直鎖状の縮合体を相互分離して利用することの意義は乏しい。

【0011】 実際の使用に供するために、縮合度9～19のL-乳酸オリゴマーを分離精製してアルカリ中和した後、減圧乾燥したものを原粉末とし、これを所定の濃度となるように適切な溶媒に無菌的に溶解又は懸濁してバイアル瓶等に充填し、注射剤とする。

【0012】 経口剤は、前記同様に処理した原粉末を所定の濃度となるように適切な分散剤、基剤、賦型剤等と混合し、粉剤、カプセル剤、液剤等の形態に製剤化する。

【0013】

【実施例】

製造例1

マントルヒーターに収めたセパラブルフラスコにL-乳酸500mlを入れ、窒素ガス300ml/分の流入及び攪拌を行い、溜出水は保温した下降型接続管を経て還流冷却器付フラスコに導ながら、145℃で3時間加熱

し、更に150mmHgに減圧して3時間加熱した後、3mmHgの155℃で3時間、最後に3mmHgの185℃で1.5時間加熱し、反応生成物であるL-乳酸オリゴマーを得た。

【0014】得られたL-乳酸オリゴマーは100℃に保ち、エタノール100mlに続いてメタノール400mlをそれぞれ滴下した後、放冷し、これを更にメタノール500ml中に加え、よく攪拌して静置した後、濾過して精製し、その濾液を減圧乾燥してアセトニトリルに溶解し、全量を200ml（原液）とした。

【0015】前記の原液を、予め平衡化した逆相ODSカラム（TSK gel ODS-80TM）にかけ、0.01M塩酸を含む15%、45%及び100%アセトニトリル（pH2.0）でステップワイズに溶離し、100%溶出画分であるL-乳酸オリゴマー-I（縮合度3~8）を得た。

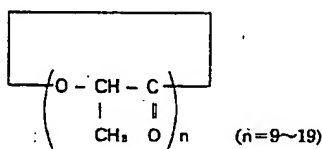
【0016】製造例2

前記同様に、0.01M塩酸を含む25%、50%及び100%アセトニトリル（pH2.0）でステップワイズに溶離し、50%溶出画分であるL-乳酸オリゴマー-II（縮合度5~15）及び100%溶出画分であるL-乳酸オリゴマー-III（縮合度9~19）を得た。L-乳酸オリゴマー-IIIの質量分析結果を図1に示す。

【0017】この図の規則的なフラグメントイオンピークから明らかなように、L-乳酸オリゴマー-IIIは環状低縮合物と直鎖状低縮合物とが混在した状態になっている。環状低縮合物は下記の化学構造式であると推測される。

【0018】

【化1】



【0019】製造例3

更に前記同様に、30%、35%、40%、42.5%、45%、50%、60%及び100%アセトニトリル（pH2.0）でステップワイズに溶離し、30%から42.5%までのアセトニトリルで溶出した全画分（縮合度5~12、L-乳酸オリゴマー-A）、45及び50%アセトニトリルで溶出した画分（縮合度9~14、L-乳酸オリゴマー-B）、60%アセトニトリル溶出画分（縮合度13~16、L-乳酸オリゴマー-C）及び100%アセトニトリル溶出画分（縮合度15~19、L-乳酸オリゴマー-D）を得た。

【0020】製剤例1

製造例2で得たL-乳酸オリゴマー-III（縮合度9~19）を1N水酸化ナトリウムで中和処理し、減圧乾燥したものを100mg/ml濃度になるように、70~80℃の局方プロピレングリコールに溶解し、0.45μmフィルターで濾過滅菌した後、バイアル瓶に15mlずつ無菌的に分注、充填し、注射剤を調製した。

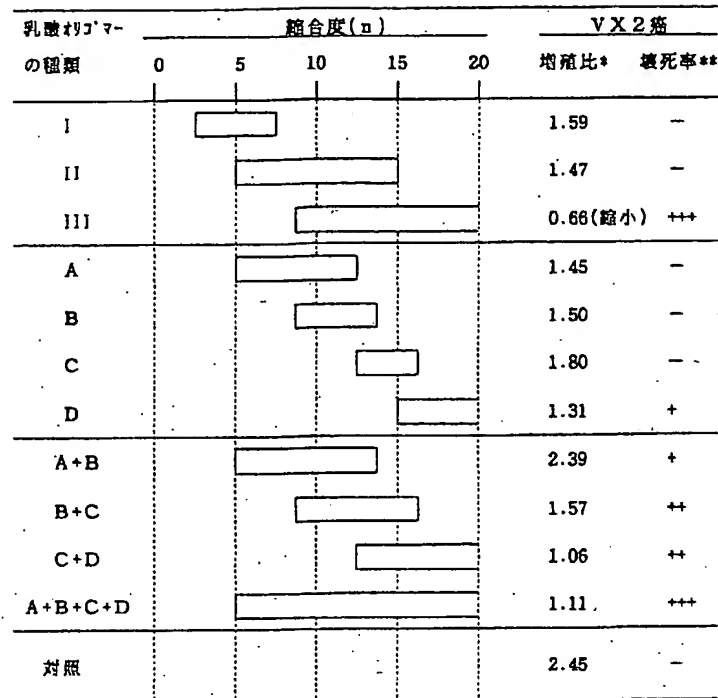
【0021】製剤例2

上記同様に、製造例2で得たL-乳酸オリゴマー-III（縮合度9~19）を1N水酸化ナトリウムで中和処理し、減圧乾燥したものをソルビトール1g中に250mg含まれるように加えて混合し、経口用粉剤を調製した。

【0022】抗癌効果比較実験

製造例1~3で作製した縮合度の異なるL-乳酸オリゴマー7種を用いて、ウサギ肝臓に移植したVX2癌に対する抗癌効果を比較検討した。L-乳酸オリゴマーは5%糖液に溶解し、6mg/匹（2.7mg/kg相当）用量でウサギ固有肝動脈に1回注射した後、1週間後にVX2癌を検査した。実験結果を表1に示す。

【表1】



* 増殖比 = (投与後1週の腫瘍サイズ) / (投与直前の腫瘍サイズ)

** 壊死率(範囲): (-) < 10% (+) 10~59% (++) 60~89% (+++) 90~100%

【0023】前記の結果から明らかなように、L-乳酸オリゴマーIII（縮合度9~19）の注射でVX2癌の完全壊死が認められ、顕著な抗癌効果を示した。しかし、縮合度5~20の付近で細分画したもの、すなわちL-乳酸オリゴマーのA（縮合度5~12）、B（縮合度9~14）、C（縮合度13~16）及びD（縮合度15~19）では抗癌効果がほとんど認められないこと、更に、これらのL-乳酸オリゴマーのA、B、CおよびDを混合すると、L-乳酸オリゴマーIIIと同等の効果が認められることが判明し、抗癌効果の発現には縮合度9~19の混合分画が必須であることが確認された。

【0024】毒性実験1

L-乳酸オリゴマーIIIの安全性を確認するために、雄性ICR系マウスに15、30及び60mg/kgを2週間毎日静脈内注射した。いずれの投与群も投与期間

中の死亡はなく、運動協調性、排便、排尿を含む行動及び身体状態の変化は認められず、体重も順調に推移し、投与期間中の体重増加量は溶媒対照群の14.6gに対して低、中及び高用量群では14.4~14.9gの範囲であった。

【0025】毒性実験2

人での臨床適用（点滴静注）を想定して、犬2匹にL-乳酸オリゴマーIIIの40mg/kgを15日間毎日点滴静注（約60滴/分）し、その安全性を評価した。投与期間中の異常症状及び死亡はなく、体温、心拍数等の身体状態も正常であった。血液学的検査値も正常範囲内で、貧血、炎症又は肝機能及び腎機能障害を示唆する所見は認められず、病理学的にも諸臓器及び組織に病変のないことが確認された。主要項目の測定結果を表2に示す。

【表2】

主要な測定項目	開始前	15日間点滴静注後
体重(kg)	13.0~16.0	15.0~17.5
赤血球数(万/立方mm)	497~523	453~483
ヘモグロビン量(g/dl)	12.8~13.0	13.1~13.9
白血球数(千/立方mm)	9.1~12.8	10.6~11.3
血小板数(万/立方mm)	14.3~15.6	10.5~11.3
GPT活性(U/l)	15~23	17~26
GOT活性(U/l)	29~45	24~43
BUN量(mg/dl)	14~32	14~17

【0026】毒性実験3

経口投与による安全性を確認するために、雌雄のICR系マウスにL-乳酸オリゴマーIIの最大投与可能量である2000mg/kgを単回経口投与し、2週間観察した。投与後の異常症状及び死亡の発生はなく、経口投与による致死量は2000mg/kgを超えるものと推定された。投与マウスの体重は溶媒対照群と同様に推移し、剖検においても肉眼的病変は認められなかった。

【0027】免疫賦活及び癌転移抑制実験

B16メラノーマ移植マウスにL-乳酸オリゴマーIIを7日間経口(500mg/kg)又は静脈内注射(10mg/kg)し、投与開始時と終了時にNK活性(ナチュラルキラー細胞の癌細胞傷害活性)を測定した。その結果、対照の担癌マウスではNK活性が投与開始時の30%に低下するのに対して、L-乳酸オリゴマーIIの経口及び静脈内投与群ではNK活性の低下が認められず、癌増殖による免疫能の低下を抑えることが確認された。これに伴って肺に転移した癌コロニー数も対照群に比較して減少した。

【0028】鎮痛実験

酢酸を腹腔内注射したマウスにL-乳酸オリゴマーIIを2回経口投与(500mg/kg×2)又は1回皮下注射(10mg/kg)し、酢酸によって誘発される疼痛(苦悶)反応数を測定した。L-乳酸オリゴマーIIの投与で疼痛(苦悶)反応数が減少し、特に皮下注射群では対照群の52%にまで減少し、著明な鎮痛効果が認められた。

【0029】発癌予防実験

遺伝子組換え技術により癌抑制遺伝子(p53)を欠損したマウスにL-乳酸オリゴマーIIの50mg/kgを週3回、20週間にわたって経口投与し、癌発生率及び死亡率を評価した。対照群では8週目から癌死が発生し始め、その後徐々に増加し、20週後には10例中1例(10%)のみの生存であったのに対して、L-乳酸オリゴマーII投与群では20週後の生存率が50%であり、癌発生予防及び延命効果のあることが示唆された。

【0030】点滴静注による臨床治療

手術不能の末期癌、術後の残遺癌や転移癌、再発癌の見える約50名の重度の患者を対象に、患者、家族等の同意及び要請に基づいて、製剤例1で調製したL-乳酸オリゴマー注射剤の点滴静注による抗癌療法を実施した。標準療法は、L-乳酸オリゴマー2000mg/人/日の20日間点滴静注を1クールとし、点滴静注では当該注射剤20ml/日を輸液(ブドウ糖液、電解質液、キシリトール)500mlに混合溶解して適用した。

【0031】L-乳酸オリゴマー注射剤で治療した各種の原発癌のうち大腸癌、食道癌及び乳癌に対して、最も顕著な増殖抑制効果が認められ、これらの癌の再発及び脳、骨髄等への転移癌も抑制されることが判明した。特に、放射線療法あるいは外科的摘除術による治療直後の癌患者(約14名)に見られる残遺癌に対しては、抗癌効果が著明で、患者の70~80%で改善が認められ、このうち8名は臨床的にほぼ治癒したものと判断された。更に、本注射剤では明らかな抗腫瘍効果のみならず、栄養及び貧血状態の改善、倦怠感等の自覚症状からの回復が著しく、放射線療法や抗癌剤投与の副作用である白血球数の減少及び肝機能障害が早期に回復したことは特記すべき変化であり、既存の治療法との併用により高い抗癌効果を期待できることを示唆している。

【0032】L-乳酸オリゴマーの副作用は実質的に認められず、標準投与量の2倍である2000mg×2/日で点滴静注した場合ならびに毎日連続して長期間(約3カ月間)点滴静注した場合にも特段の異常は発生してなく、安全性は極めて高いと言える。健康人では発生しない癌患者特有の変化として、特に初回の点滴静注時に一過性に発熱することもあるが、軽度であり、患者の不安を除く目的でサキシゾン(コハク酸デヒドロコチゾン)の100~200mg/回を併用したのみであった。

【0033】症例1：大腸癌

脾臓への浸潤及び癒着を伴う横行結腸癌があり、外科的切除術及びバイパス手術を施したものの、完全切除ができずに残遺癌の見られた60歳の男性に、約2年間にわたり上記の標準療法による本注射剤の点滴静注を行っ

た。その結果、X線や超音波エコーで癌の増殖抑制が確認されるとともに、癌の転移及び再発の明らかな抑制効果が認められた。更に、本注射剤による特徴的な変化として、治療開始後約3日～10日で疼痛、倦怠感、易疲労感、悪心等の身体症状の軽減、食欲回復及び体重の増加による栄養状態の改善が認められ、これに伴って元気が復調し、心理的不安や精神荒廃状態からも解放され、生活活動性の向上が見られた。

【0034】症例2：大腸癌の肺転移癌

大腸癌の外科的切除後、肺への広範性の転移癌が発見され、無気肺状で余命3～4カ月と判断された60歳の男性に、同様の点滴静注による治療を行った。肺の陰影は残存するものの、約3年間の治療期間を通じて肺機能は極めて良好で、癌病巣の拡大所見及び他臓器への転移はなく、著しい延命効果が認められた。本例でも食欲及び栄養状態は良好で、疼痛等の身体症状を伴うこともなく、生活活動性はほぼ正常な状態であった。

【0035】症例3：食道癌

食道癌のために胃全摘を含む外科的切除を受けた50歳の男性で、その17カ月後に吐血が起こり、食欲不振及び嚥下困難を訴え、内視鏡検査により外科術の吻合部に再発性食道癌(約6cm)及び狭窄が発見された当該患者に、同様の点滴静注を施した。治療開始後10日で摂食可能となり、内視鏡的にも癌の縮小化及び消化管の疎通が確認され、その後の経過観察でも良好な状態を維持している。

【0036】症例4：乳癌

乳癌の手術後3年目に寛骨及び肋骨の疼痛を訴え、骨シンチグラムで転移癌が発見された42歳の女性に本注射剤を同様に点滴静注して治療した。本患者は癌発見後4カ月間にわたって抗癌剤の治療を受けており、治療開始時の検査では白血球数の減少(2,900)、貧血所見(赤血球数384万、ヘモグロビン値10.7g/dl)及び肝障害(GPT値102U)が認められた。点滴静注開始後4日目に白血球数の回復(8,100)、貧血及び肝機能の改善(GPT値21U)があり、7日目には倦怠感、胸痛及び骨痛等の自覚症状が消失した。1クルールの点滴静注を終了し、2年経過後の時点でも自覚症状なく推移しており、転移癌増殖の抑制又は停止が確認されている。婦人科系の癌に対しては本注射剤の効果が比較的高い傾向を示し、長期生存又は著効例が比較的多い。一般に、乳癌患者では点滴静注時に癌局所の違和感を訴えたことから、癌に対する直接的な作用が窺われ、肝動注等の癌局所療法が本注射剤の有用な適用経路の一つであることも裏付けられた。

【0037】乳酸等の短鎖脂肪酸の代謝及び生理作用から予想されたことであるが、糖及び脂質代謝異常に対する改善効果も示唆され、本臨床例に合併した糖尿病、高脂血症等の所見、すなわち上昇した血清及び尿中の糖、血清コレステロールやトリグリセライド値が正常に回復

した。これらは本注射剤の肝機能改善効果等と併せ、悪性腫瘍の改善に有利に作用しているものと考えられた。又、点滴静注と製剤例2で調製した経口用粉剤との併用を試みた結果、本注射剤による効果の維持と増強に有用であることが判明した。

【0038】経口投与による臨床治療例

乳癌の摘出術で肝臓転移が発見され、手術不能により余命3カ月と宣告された女性患者に、製剤例2で調製した経口用粉剤を処方し、約8g/日(L-乳酸オリゴマーとして約2400mg/日)を継続摂取中である。つごう7カ月間摂取後の検査では肝機能の改善及び職務を全うできる体調の好転があり、癌の明らかな増殖抑制及び延命効果が確認されている。

【0039】

【発明の効果】本発明は、縮合度9～19のL-乳酸オリゴマーが大腸癌、食道癌及び乳癌に対して特に優れた増殖抑制を示すとともに、これらの癌の転移及び再発を抑制し、顕著な体調改善作用を有することを明らかにしたものであり、輸液等に添加した当該物質の点滴静注が、これらの悪性腫瘍に対する有効な治療法になり得ることを示している。当該L-乳酸オリゴマーは、生体成分に由来するL-乳酸の低縮合体であることから、生体適合性は極めて高く、最も過酷な血管内注射でも副作用は皆無に等しいこと、ならびに皮下や経口経路でも抗腫瘍効果の認められることが大きな特徴である。このような特性から、病期の初期から末期までの各段階及び処置困難な患者の状態でも適用可能であり、既存の抗腫瘍療法と適宜組み合わせることで最大の治療効果を期待できると同時に、白血球の減少や肝機能障害等の既存の抗癌療法による副作用を軽減又は除去することを可能にしている。更に、長期間の継続的摂取を安全かつ容易ならしめるものであり、実験的に示唆された発癌予防等にも供し得る。L-乳酸オリゴマーの作用機作として、腫瘍細胞に対する親和性と増殖機構への干渉、特異な腫瘍血管の閉塞等が推定されているが、新たに免疫賦活作用ならびに糖脂質代謝を中心とした肝機能及び消化機能の改善作用が抗腫瘍効果に係わっていることが実証され、このことは強力な細胞傷害作用を示す既存の抗悪性腫瘍剤とは異なり、L-乳酸オリゴマーが重篤な副作用を伴わずに比較的広い抗癌スペクトルを示す一因になっているものと推察される。更に、慢性的疾患に伴う悪液質の緩和療法や抗エイズ療法にも有用であることを示しており、難治性疾患の治療においても大きな意義を有している。臨床経験では、食欲不振及び体重減少を含む栄養不良や貧血、疼痛、倦怠感等の身体症状ならびに精神的、肉体的介助を必要とする生活活動性の低下に対して優れた改善効果のあることが判明した。特に、悪性腫瘍において免疫能及び体力の低下を起し、死亡の決定的要因となる食欲の不振又は廃絶を著しく改善する作用があり、本剤の重要な効果として挙げられる。このように、L-乳酸

オリゴマーは単に抗癌効果のみならず、悪性腫瘍の随伴
 症状を改善する作用を併有し、患者の生活の質（QOL）
 の向上を図るための有効な手段になることを示して
 おり、総合的にみて既存の抗悪性腫瘍剤を凌駕するもの

と言える。

【図面の簡単な説明】

【図1】

【図1】

